

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

UNIDAD DE POST-GRADO

**Estudio del efecto Antidepresivo del extracto
Hidroalcohólico de hojas de *Hypericum Laricifolium*
(Chinchango) en ratones Albinos**

TESIS

**Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención
en Farmacología Experimental**

AUTOR

Graciela Ines Laines Lozano

Lima – Peru

2010



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POST-GRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN
EN FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL**

Siendo las 10.30 a.m. del 13 de diciembre del 2010 se reunieron en el Auditorio de la Unidad de Post-Grado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador de Sustentación de Tesis, presidido por el Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo e integrado por los siguientes miembros: Dr. Manuel Palomino Yamamoto, Mg. José Alfonso Apesteguía Infantes, Dra. Daisy Yesenia Flores Cortez y Mg. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa; para la sustentación oral y pública de la Tesis intitulada: **"ESTUDIO DEL EFECTO ANTIDEPRESIVO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Hypericum laricifolium* (Chinchango) EN RATONES ALBINOS"**, de la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **GRACIELA INES LAINES LOZANO**, de la Maestría en Farmacología con mención en Farmacología Experimental.

Acto seguido se procedió a la exposición de la Tesis, con el fin de optar al Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Examinador de Sustentación de Tesis procedió a la votación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

EXCELENTE (DIECINUEVE)

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **GRACIELA INES LAINES LOZANO**, el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental.

Siendo las **11:30** hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las **11:35** hrs. del 13 de diciembre del 2010.

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P., T.C.)
Presidenta

Dr. Manuel Palomino Yamamoto (P.P., T.C.)
Miembro

Mg. José Alfonso Apesteguía Infantes (P.Asoc., T.C.)
Miembro

Dra. Daisy Flores Cortez (P.Aux., T.P.)
Miembro

Mg. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa
Miembro

Observaciones:

.....
.....

*A mi señora madre por
todo su amor y
comprensión;
y a la memoria de mí
querido padre.*

*A mi gran amigo José
Luis "Pepe lucho" con
toda mi gratitud por la
fuerza y apoyo
invalorable.*

Agradecimiento:

A la Dra. Deisy Flores Cortez,
asesora de mi tesis, por su
orientación, colaboración y
amistad.

INDICE

RESUMEN

SUMMARY

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. GENERALIDADES	3
III. PARTE EXPERIMENTAL	18
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
VIII. ANEXOS	38

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue comprobar el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* (Chinchango) en ratones albinos. Se empleó el modelo de natación forzada modificada (FST) donde se sometió a todos los animales a una sesión de habituación que consistió en sumergirlos en una piscina cilíndrica durante 15 minutos; posteriormente fueron tratados cada 12 horas de la siguiente manera: Grupo 1(n=13) vehículo 5 ml/Kg, Grupo 2 (n=13) Diazepan 10mg/Kg, Grupo 3 (n=13) *Hypericum I* (n=13) 1% 100mg/Kg y Grupo 4 (n=13) *Hypericum I* 10% 1000mg /Kg .Veinticuatro horas después se realizó la sesión de evaluación sometiendo a la experiencia anterior, durante 5 minutos. Se registró el tiempo de inmovilidad, swimming (natación) y climbing (escalado) para cada animal. Para la prueba de suspensión de la cola (TST) los animales fueron tratados cada 12 hrs de la siguiente manera Grupo 1(n=11) vehículo 5 ml/Kg Grupo 2 (n=11) Fluoxetina 10mg/Kg Grupo 3 (n=11) *Hypericum I* (n=11) 1% 100mg/Kg Grupo 4 *Hypericum I* 10% 1000mg /Kg. Veinticuatro horas más tarde los ratones fueron suspendidos individualmente por el tercio distal de la cola (prueba de suspensión de la cola) registrándose el tiempo de inmovilidad durante 6 minutos. En el modelo de FST los grupos *Hypericum* 1 % y 10% mostraron una reducción en el tiempo de inmovilidad en relación al grupo control 170 y 167 seg vs 231 seg respectivamente; el tiempo de swimimng para el grupo *Hypericum* al 10% en relación al grupo control fue 112 vs 48 seg respectivamente; no observándose modificaciones en el tiempo de climbing. En la prueba de TST los animales con *Hypericum I* al 10% y fluoxetina mostraron una significativa reducción del tiempo de inmovilidad en relación al grupo control 65 y 42 seg vs 108 segundos. En conclusión el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* presentó efecto antidepresivo en ratones observándose un mayor efecto a la concentración del 10%.

Palabras claves: *Hypericum laricifolium*, nado forzado, suspensión de la cola, depresión, ratones.

SUMARY

The objective of this research was to test the antidepressant effect of hydroalcoholic extract of the leaves of *Hypericum laricifolium* (Chinchango) in albino mice. In modified forced swimming test (FST) all animals were immersed in a cylindrical pool for 15 minutes (habituation session), then they were treated every 12 hours as follows: Group 1 (n = 13) Vehicle 5 ml / kg, Group 2 (n = 13) diazepam 10mg/kg, Group 3 (n = 13) *Hypericum l* (n = 13) 1% 100 mg / kg and Group 4 (n = 13) *Hypericum l* 10% 1000 mg / kg and four hours after the session was equal to the last experience, for 5 minutes. We recorded the time of immobility, swimming and climbing for each animal. In the tail suspension test (TST) the animals were treated every 12 hours as Group 1 (n = 11) Vehicle 5 ml / kg, Group 2 (n = 11) Fluoxetine 10mg/kg Group 3 (n = 11) *Hypericum l* (n = 11) 1% 100mg/kg *Hypericum l* Group 4 10% 1000 mg / kg. Twenty-four hours later the mice were individually suspended by the distal third of the tail (test suspension of the tail) the immobility time was recorded for 6 minutes. In the FST (Forced Swimming Test) *Hypericum l* groups 1% and 10% showed a reduction in the immobility time in relation to the control group 170, 167 vs 231 seconds respectively; swimming time for the *Hypericum l* group and 10% compared to the control group was 112 vs 48 seconds respectively, no significant changes in the time of climbing. TST in animals with *Hypericum l* to 10% and fluoxetine showed a significant reduction of immobility time in relation to the control group 65, 42 vs 108 seconds. In conclusion, the hydroalcoholic extract of the leaves of *Hypericum laricifolium* have antidepressant effect in mice with a greater effect on the concentration of 10%.

Key word: *Hypericum laricifolium*, forced swimming test, tail suspension test, depression, mice.

I.- INTRODUCCIÓN

Indudablemente las plantas medicinales han conformado las bases de los principales productos para la salud desde épocas antiguas. El reconocimiento de su valor como recurso clínico, farmacológico y económico va en aumento, aunque con algunas variantes. Paulatinamente se esta normalizando los diferentes criterios enmarcados en cuanto a los niveles de seguridad, eficacia y calidad que deben reunir los productos herbarios, a efectos de hacer llegar un producto confiable a la población. A pesar de que el uso de las plantas medicinales constituye una práctica remota, contabilizándose en miles de referencias de aplicación para ellas, solo un número de especies ha sido correctamente evaluado según los criterios de investigación científica.

El genero *Hypericum* es una planta de origen europeo, sin embargo la especie *Hypericum lacirifolium* “chinchango”, es cultivada en el norte de nuestro país. En esta planta se han identificado aceites esenciales, triterpenos y esteroides. Además es rica en compuestos fenólicos, ácido cafeico, clorofénico proantocianidoles, derivados prenilados del floroglucinol, y naftodiantronas entre ellas hyperforina (2 a 4,5%), adhyperforina (0,2 a 1,8%)^{1,2}.

Hypericum perforatum L. es una de las especies mas estudiadas desde el punto de vista fitofarmacológico, de forma tradicional ha sido empleada para el tratamiento de desordenes depresivos, principalmente leve a moderada. Se cree que sus componentes activos principales son una naftodiantrona, hypericina y un floroglucinol, hyperforina³.

Estos componentes que intervienen en el efecto antidepresivo de la planta, se presentan en diferentes concentraciones en las diferentes especies, inclusive algunas dependen de la zona de cultivo, además se ha demostrado que varias especies de este genero no presentan actividad antidepresiva^{4,5}. De tal manera que se hace necesario la búsqueda de la comprobación del efecto antidepresivo de las especies peruanas como el *Hypericum*

laricifolium. Basándonos en estos antecedentes nos planteamos en esta investigación los siguientes objetivos:

Objetivos

Generales

- Comprobar el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* (Chinchango) en ratones.
- Comparar el efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* (Chinchango) versus fluoxetina como fármaco antidepresivo estándar.

Específicos

- Evaluar los indicadores de depresión en el modelo experimental de nado forzado en ratones tratados con el extracto de las hojas *Hypericum laricifolium*.
- Evaluar los indicadores de depresión en el modelo experimental Prueba de Suspensión de la Cola en ratones tratados con el extracto de *Hypericum laricifolium*.

II.- GENERALIDADES

2.1 ASPECTOS GENERALES DE LA PLANTA

2.1.1 Clasificación taxonómica:

La posición botánica según la dirección del museo de historia natural de la UNMSM es la siguiente:

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE : DILENIIDAE
ORDEN : THEALES
FAMILIA : CLUSIACEAE
GENERO : *Hypericum*
ESPECIE : *Hypericum laricifolium Jussieu*
NOMBRE VULGAR : Chinchango

2.1.2 Origen

El *Hypericum* es una planta que pertenece a la familia de las clusiaceas, no es oriunda del Perú, fue traída durante la conquista habiéndose extendido de manera significativa abarcando su presencia en todo el continente americano de manera especial en países como Chile, Argentina y Perú. Es una especie herbácea que crece abundantemente en forma silvestre en terrenos sin cultivar, por lo que es considerado como una maleza. Se caracteriza por sus flores amarillas y sus frutos en forma de cápsulas ovoides. La droga esta en las sumidades que debe ser recolectada durante la floración⁶.

Esta planta es actualmente cultivada en Europa, Norteamérica, Sudamérica, Australia y China; las partes aéreas, son recogidas durante la estación de florecimiento y es usada como extractos estandarizados, un examen de las hojas revelan puntos negros pequeños cuando se toman entre los dedos produciendo una coloración roja, este pigmento rojo contiene hypericina⁷.

2.1.3 Descripción Morfológica

El *Hypericum laricifolium jussieu*, pertenece a la familia de las clusiaceas conocidas en nuestro medio bajo el nombre de Chinchango o chinchagual es un subarbusto ramificado que mide hasta 1.50 m de alto, presenta hojas opuestas sésiles, elípticas, entre 5 cm x 1,5 cm. Sus flores se caracterizan por ser de racimos terminales con 5 sépalos soldados en la base, cinco pétalos amarillos libre, grablos numerosos, estambres libres y ovarios supero con tres estilos⁸.

2.1.4 Composición Química

Su composición química es muy compleja pudiéndose citar entre sus principales componentes en hojas y flores a los derivados diantrónicos (naftodiantronas) especialmente la hypericina y pseudohypericina, derivados floroglucínicos como Hyperforina (2 a 4,5%), adhyperforina (0,2 a 1,8%), flavonoides. Estos últimos componentes son abundantes del 2 al 4%: en hiperosido, rutosido, quersitrosido e hisoquersitrosido. Se señala la presencia de trazas de xantonas en los tallos floridos; aceite esencial, taninos, ácidos fenólicos, triterpenos, carotenoides y esteroides. Los constituyentes responsables de la coloración del zumo contenidos en la puntuaciones negruscas de las hojas son naftodiantronas: hypericina, biogeneticamente derivada de la hemodolantrona, va acompañada por pseudohypericina y en la planta fresca protohypericina y protoseudohypericina^{1,2,6,9}.

2.1.5 Distribución

La familia Clusiaceae también conocida como Guttiferae, consiste en unos 50 géneros y 1200 especies, distribuidas en las zonas tropicales y templadas; en el Ecuador están representados 14 géneros¹⁰.

El genero *Hypericum* tiene unas 400 especies con una distribución cosmopolita. Para el Perú se citan 14 especies de las cuales 6 son consideradas endémicas^{10,11}. Se distribuye en la selva alta y en la sierra

entre 2000 y 4000 msnm en nuestro país además las hojas y flores son empleadas como tinte y para el tratamiento de la verruga⁸.

2.1.6 Etnomedicina

El *Hipericum perforatum* L. es una de las especies mas conocidas en la medicina tradicional y las investigaciones farmacológicas han demostrado su eficacia, de manera que en la actualidad las indicaciones clínicas se orientan principalmente para el manejo de la depresión, como desordenes afectivos estacionales^{7,3}.

Uno de los componentes más abundantes de la planta (hypericina) también a demostrado presentar propiedades antitumorales vía la actividad apoptocica de las células malignas. Otros estudios demuestran el estudio citotóxico de la hypericina *in vitro* en células tumorales después de la fotosensibilización⁷. Además la hyperforina inhibe el crecimiento *in vitro* de células de cáncer mamario en ratas y en humanos⁷.

Otros estudios han demostrado su actividad antitumoral en carcinoma celular escamoso, melanoma maligno y linfoma, mejor o igual que otras drogas citotóxicas mediante la inducción de la apoptosis de la célula tumoral vías la activación de la mitocondria, liberación del citocromo C y la activación de la caspasa⁷.

Por otro lado, la planta ha demostrado tener actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivos y numerosos virus.

Por la vía tópica es empleado como cicatrizante, antiséptico y antiviral. Además posee marcada acción antiinflamatoria, antiespasmódica y diurética, debido a su alto contenido de flavonas; sin embargo las propiedades mas estudiadas han sido su actividad antidepresiva y antiviral que se atribuyen a los compuestos floroglucinicos como la hyperforina, que esta presente en cantidad significativa en su composición química, así como la presencia de naftodiantronas (hypericina) y xantonas, aunque esta última se halla en baja proporción⁶.

2.2 Aspectos Generales de la Depresión

Los trastornos del estado de ánimo son un conjunto de enfermedades en la que la principal manifestación es una alteración en el sentido de ánimo bajo (ánimo depresivo) o de un ánimo elevado (euforia que caracteriza los cuadros maníacos)¹².

Los desordenes depresivos están caracterizados por una disminución persistente del estado de ánimo, pérdida de interés y satisfacción, y energía disminuida¹³.

La depresión no es un sentimiento de tristeza que se relaciona con una relación displacentera, tampoco es un estado de ánimo pasajero o estable, un síntoma o una estructura psicopatológica; su definición va mucho más allá de todo lo anterior. Se define como: *un síndrome caracterizado por el decaimiento del estado de ánimo, la disminución de la capacidad de experimentar placer y de la autoestima, con manifestaciones afectivas ideáticas, conductuales, cognitivas, vegetativas y motoras y del desempeño social – ocupacional*¹⁴.

La depresión provoca en el sujeto un intenso sufrimiento psíquico, que lo lleva a sentir que no vive y a no querer seguir viviendo, de manera conjunta, existe una importante discapacidad a nivel personal, familiar, social, vocacional y laboral. Este trastorno promueve y prolonga enfermedades, lo que provoca el empeoramiento de la calidad de vida y la salud. La depresión se asocia con morbilidad y mortalidad cardiovascular¹⁴.

Los desordenes depresivos son comunes con una prevalencia de depresión mayor entre 5 a 10 % de la población atendida a nivel primario, de 2 a 3 veces de las personas que tienen síntomas depresivos, no se encuentran clasificadas como depresión mayor. Las mujeres son afectadas dos veces con más frecuencias que los varones. Los desordenes depresivos son la cuarta causa más importante de discapacidad a nivel mundial y se espera que llegue a ser la causa más importante para el año 2020. Entre el 10 al

15% de los adultos mayores tienen síntomas depresivos; sin embargo, la depresión mayor es relativamente rara en adultos mayores¹³.

El 12.7 % hombres tienen un riesgo en el transcurso de su vida de depresión mayor, y 21.3% las mujeres, sin embargo los desordenes depresivos son frecuentemente sub-diagnosticados y por consecuencia sub-tratados. Se estima que menos del 10% de individuos con depresión mayor han sido atendidos por un psiquiatra, el 10 al 20% de pacientes no quiere un antidepresivo, aproximadamente 1 de cada 5 pacientes deprimidos no cumplió con su primera prescripción de antidepresivo y solo cerca de la mitad de los pacientes continúa tomando la medicación descrita después de 5 a 6 meses.

A pesar del gran progreso en el campo de la farmacoterapia, y con más de 30 antidepresivos presentes en el mercado aun muchos problemas terapéuticos no han sido resueltos.

Los desordenes depresivos coexisten frecuentemente con enfermedades médicas, tales como el infarto de miocardio que esta asociado en 16-22% a depresión mayor¹⁵. Mientras que la prevalencia de depresión en diabetes puede ser mayor del 40%, persiste y es recurrente con el tiempo. La depresión generalmente ha sido considerada como una consecuencia considerable de la diabetes, puesto que incrementa la tasa de morbilidad y complicaciones potencialmente fatales. Las complicaciones macrovasculares en pacientes diabéticos deprimidos son 2,5 veces más que en pacientes que carecen de esta condición y el riesgo de complicación microvascular 11 veces más y 5 veces más alta mortalidad¹⁶.

2.2.1 Clasificación

El manual de estadística y diagnóstico de desordenes mentales (DSM-IV) o la clasificación internacional de desordenes mentales y del comportamiento (ICD-10) divide a la depresión en: el DSM – IV lo divide en desordenes depresivos mayores y desordenes distímicos. Los desordenes depresivos

mayores están caracterizados por uno o más episodios mayores (por ejemplo al menos dos semanas de depresión de ánimo o pérdida de interés acompañada por al menos 4 síntomas adicionales de depresión). El desorden distímico es caracterizado por al menos dos años de estado de ánimo deprimido, que no están acompañadas de síntomas adicionales y que no alcanzan el criterio de desorden depresivo mayor. El ICD – 10 divide a la depresión en media a moderada o episodio depresivo severo. La depresión media a moderada esta caracterizada por síntomas depresivos y algunas alteraciones funcionales. La depresión severa está caracterizada por agitación adicional o retardo psicomotor con marcados síntomas somáticos¹³.

Criterios para la depresión DSM – IV:¹²

- Estado de ánimo deprimido la mayor parte del día y casi a diario.
- Disminución marcada del interés o placer en todo o casi todas las actividades, casi a diario.
- Pérdida de energía, fatiga casi a diario.
- Pérdida de auto cuidado.
- Pensamientos recurrentes de muerte o suicidio o cualquier comportamiento suicida.
- Disminución de la capacidad para pensar o concentrarse.
- Sensaciones irracionales de autoculpabilidad excesiva o inapropiada casi a diario.
- Agitación o Retardo psicomotor.
- Insomnio o hiperinsomnio casi a diario.
- Cambio de apetito (disminuído o aumentado con cambio de peso correspondiente).
- Los síntomas, ya sea uno y/o cualquiera de los cuatro otros deben estar presentes por al menos dos semanas¹⁷.

2.2.2 Prevalencia e Implicancia Socioeconómica:

La depresión es un problema de alto costo, en los EEUU los Desordenes Depresivos afectan al 16,2% de adultos en el curso de sus vidas. La OMS en el 2001 clasifica a la depresión como la cuarta causa de incapacidad entre todas las enfermedades, explicando el 4,4% del total de años de vida de discapacidad¹⁸.

La depresión frecuentemente no es reconocida en los cuidados de atención primaria, pero un screening ha demostrado que el incremento de su detección pueden conducir a una mejora de sus resultados cuando está ligado a un tratamiento adecuado.

Los costos directos de la depresión están relacionados al diagnóstico y a la terapéutica, tanto farmacológica como psicoterapéutica. El tratamiento es altamente costoso y requiere una inversión de tiempo; muchos de los nuevos medicamentos antidepresivos no tienen alternativas genéricas y son entre las más caras, entre las principales 200 drogas prescritas¹⁸.

Hay también costos indirectos importantes de las enfermedades depresivas tales como el desempleo y la pérdida de ingreso. Cerca de la mitad de la pérdida de productividad en los EEUU es debido a depresión mayor con un costo estimado de 44 billones anuales. La depresión también esta asociada con un incremento de atención médica, incremento en los costos por otras condiciones de salud, con peores resultados a largo plazo y menor adherencia a los regimenes de tratamiento. El tratamiento farmacológico es la intervención con menos costos por año de vida ajustada a la calidad¹⁸.

Según la OMS el 3 a 5% de la población mundial presenta depresión lo que equivale de 120 a 200 millones de personas; a su vez los depresivos representa entre 10 al 20 % de los enfermos de la consulta general y entre 40 a 60 % de los pacientes vistos por el psiquiatra. Solo una pequeña parte de la población depresiva (15%) recibe asistencia médica, correspondiendo al médico general el 1,5%, al psiquiatra 0,2% y siendo tratados en régimen

de internamiento solo el 0,1%. El 13,3% restante no es diagnosticado correctamente¹⁹.

2.2.3 Etiopatogenia

Aspectos Biológicos

La principal teoría bioquímica acerca de la depresión es la hipótesis monoaminérgica, propuesta por Schildkraut en 1965 y, según la cual, la depresión se debe a una deficiencia funcional de los transmisores monoaminérgicos en determinadas regiones del encéfalo, mientras que la manía es consecuencia de un exceso funcional. La hipótesis se formuló inicialmente en relación con la noradrenalina, pero trabajos posteriores demostraron que la mayoría de las observaciones también eran compatibles con que la sustancia clave fuera la 5 hidroxitriptamina (5-HT).

El estudio de las pruebas funcionales de actividad de las vías monoaminérgicas conocidas en los pacientes deprimidos no aporta resultados concluyentes.

Cualquier teoría sobre la depresión ha de tener en cuenta el hecho que los efectos bioquímicos directos de los antidepresivos son muy rápidos, mientras que sus efectos antidepresivos tardan semanas en aparecer. Esta situación es similar a la que ocurre en relación con los antipsicóticos y algunos ansiolíticos e indica que los responsables de la mejoría clínica son mas las adaptaciones del encéfalo que el efecto primario del compuesto²⁰.

Más que pensar en deficiencias de monoaminas como causa directa de las variaciones de la posible actividad de las neuronas (depresión o actividad maniaca) del encéfalo, quizás sería mejor pensar en las monoaminas²¹.

La depresión se piensa que es el resultado de la disrupción de la neuroquímica cerebral normal. Los trabajos en esta área han conducido al desarrollo de nuevas drogas para tratar la depresión. Estas drogas parecen afectar un número de neurotransmisores monoaminocentrales. Las vías

neurales de norepinefrina central están probablemente involucradas en actividades de vigilancia, motivación y niveles generales de energía. Estas vías comparten un rol con las vías neurales de serotonina afectando la ansiedad e irritabilidad. Las vías neurales de serotonina parecen controlar o tener un rol en la impulsividad y comparte un rol con las vías de dopamina en el apetito, sexo y agresión²¹.

Las teorías actuales de la depresión son complejas. El tratamiento con antidepresivos a largo plazo genera una activación sostenida de adenocin-3,5-monofosfato cíclico (AMPC) en regiones específicas del cerebro. La proteinquinasa A el cual es estimulado por el AMPC, fosforila las proteínas de unión al elemento regular del AMPC; esta proteína luego regula y activa genes blancos específicos incluyendo el factor neurotrófico derivado del encéfalo (BDNF), un factor neuroprotector que resulta en crecimiento del nervio hipocampal, el estrés psicológico importante en la patogénesis de la depresión puede disminuir la producción de BDNF, resultando en atrofia neuronal hipocampal. Además una serie de estudios de imágenes del encéfalo mostraron consistentemente una actividad neuronal reducida en la corteza pre-frontal-dorso-lateral, que co-variaba con la severidad de la depresión (cuanto más severa era la depresión mas grande era el déficit pre-frontal) de este modo una hipótesis actualizada en el desarrollo de desordenes depresivos podría posibilitar que la vulnerabilidad inducida por estrés en personas genéticamente susceptibles podría inducir una cascada de mecanismos neuronales intracelulares que incrementen o disminuyan factores neurotróficos específicos necesarios para la supervivencia y funcionamiento de neuronas cerebrales específicas²¹.

Aspectos Genéticos

Diversos estudios han demostrado que los familiares de pacientes depresivos padecen depresión con el triple de frecuencia que los familiares de los controles sanos. También está aumentado entre esos familiares, la frecuencia de trastornos bipolares. Aunque la evidencia de transmisión

genética no es tan alta como en el trastorno bipolar, los gemelos monocigóticos muestran mayor concordancia (50%) que los dicigóticos¹².

Aspectos Sociales:

Los acontecimientos vitales estresantes se asocian de forma clara a la depresión. Se ha demostrado que al menos el 10% de los sujetos que padecen un acontecimiento vital relevante desarrollan posteriormente una depresión (6 veces más riesgo). Otros trabajos han demostrado que los deprimidos presentan tres veces más acontecimientos vitales en los seis meses previos que los controles. Se ha postulado que los acontecimientos estresantes serían especialmente importantes cuando se dan en la infancia y en los primeros episodios de los trastornos depresivos recurrentes, adquiriendo después la enfermedad un curso "mas autónomo" de los acontecimientos externos¹².

Un escaso apoyo social, sobre todo en la pareja y la falta de confidentes, se ha relacionado con un mayor riesgo para el inicio de la depresión como con un peor pronóstico, una vez aparecido el cuadro afectivo¹².

2.2.4 Tratamiento

Los métodos disponibles para el tratamiento de la depresión pueden ser divididos en dos grupos, biológico y psicológico, la psicoterapia de los desordenes depresivos, incluyen: la terapia cognitiva, basada en la corrección de distorsiones de pensamiento, la terapia interpersonal enfatizando los problemas interpersonales actuales no resueltos, y la terapia de comportamiento cuyo objetivo es la corrección de comportamientos indeseables. Otras formas de intervenciones psicológicas usadas en el manejo de la depresión son: terapia familiar, terapia de grupo y psicoterapia de soporte^{20,22}.

2.2.5 Clasificación de antidepresivos^{20,22}

Los antidepresivos disponibles se dividen en tres categorías

Inhibidores de la recaptación de monoaminas:

- **Antidepresivos Tricíclicos (ATC):** imipramina, aminotriptilina clomipramida: son inhibidores no selectivos de la recaptación de monoaminas (algunos son selectivos de la noradrenalina). Tiene una estructura química similar a la de la fenotiacina y algunos poseen acciones bloqueantes de receptores no selectivos similares. Se utilizan ampliamente como antidepresivos. La mayoría son de acción prolongada y sus metabolitos son a menudo activos. Sus efectos secundarios son: sedación (bloqueo H_1), hipotensión postural (bloqueo del receptor adrenérgico α), xerostomía, visión borrosa, estreñimiento (bloqueo muscarínico), a veces manía y convulsiones. Riesgo de arritmias ventriculares por bloqueo del canal de potasio HERG. Son peligrosos en sobredosis aguda. Producen interacción medicamentosa con: alcohol, anestésicos, hipotensores y antiinflamatorios no esteroides, no deben utilizarse con IMAO^{20,22}.
- **Inhibidores específicos de la recaptación de 5 – HT (Serotonina) (ISRS):** fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina y citalopram. Sus acciones antidepresivas son similares a los ATC; pero la toxicidad aguda es menor que los IMAO y ATC, lo que reduce su riesgo en caso de sobredosis. Sus efectos secundarios consisten de náuseas, insomnio y disfunción sexual. No produce reacciones alimenticias, pero si se administran junto con IMAO puede desencadenar una "reacción serotoninérgica" (hipertermia, rigidez muscular, colapso cardiovascular). Son los antidepresivos mas utilizados en la actualidad^{20,22}.
- **Otros Inhibidores con estructura química no relacionada con la de los ATC,** pero con características farmacológicas similares:

maprotilina, reboxetina, inhiben la recaptación de monoaminas a través de un mecanismo selectivo (maprotilina, reboxetina) o no selectivos por la noradrenalina. Su farmacología es similar a la de los antidepresivos tricíclicos, pero tienen menos efectos secundarios, sobre todo de tipo cardíaco, por lo que son mas seguros en caso de sobredosis^{20,22}.

Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO)

Tenemos fenelcina, tranilcipromida isocarboxacida, que no son selectivos en relación con los subtipos MAO – A o B; moclobemida, selectivo para la MAO – A. Su acción es prolongada (semanas) debido a la inhibición irreversible de la MAO. La duración de la acción de la moclobemina es breve. Efectos secundarios: hipotensión postural (bloqueo simpático), efecto atropínico (similares a los de ATC), aumento de peso, estimulación del SNC con inquietud e insomnio; lesión hepática (rara); la sobredosis aguda produce estimulación del SNC, a veces con convulsiones. Puede ocasionar una respuesta hipertensiva grave a los alimentos que contienen tiamina (reacción al queso); no sucede con moclobemida. Los IMAO no deben administrarse junto con ATC o inhibidores de la recaptación de 5 HT (ISRS). Producen interacciones con muchos fármacos: petidina con hiperpirexia e hipotensión^{20,22}.

Litio

Es un ión inorgánico que se administra por vía oral en forma de carbonato. No se conoce su mecanismo de acción. Las principales posibilidades bioquímicas son: interfiere con la formación de trifosfato de inositol, interfiere con la formación de AMPc. Actúa controlando tanto la manía como la depresión; se usa sobre todo en forma profiláctica en la depresión bipolar. Su vida media plasmática es prolongada y presenta estrecho margen terapéutico. Los efectos secundarios son frecuentes y hay que vigilar la concentración

plasmática, especialmente en casos de nefropatía, los diuréticos potencian su acción. Los principales efectos adversos son: náuseas, sed y poliuria, hipotensión, temblor, debilidad, confusión mental, teratogénia. La sobredosis aguda causa confusión, convulsiones y arritmias cardíacas²⁰.

Otros Antidepresivos:

Son compuestos con efectos bloqueantes de receptores no selectivos y con una acción antidepresiva que no se comprende por completo: mianserina, bupropión, trazodona, mirtasapina. No tienen un mecanismo de acción común. Actúan principalmente como antagonistas no selectivos en los receptores presinápticos, posiblemente potenciando la liberación de las aminas. El retraso de las respuestas terapéuticas es similar a los ATC y los IMAOs, mirtasapina podría actuar con mayor rapidez. Los efectos adversos y la toxicidad aguda son variables, pero en general menores que los ATC^{20,22}.

2.2.6 Reacciones Adversas

Los efectos adversos de los antidepresivos pueden llegar a manifestarse con reacciones de cierta importancia clínica hasta en el 5 % de los pacientes. Los antidepresivos tricíclicos poseen una mayor incidencia de reacciones adversas, sin embargo los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) promocionados como mas selectivos y menos tóxicos no están exentos de efectos colaterales²³.

En Argentina, el comité de farmacovigilancia reportó síndromes confusionales con la administración de fluoxetina y síndrome parkinsoniano con paroxetina. Estas patologías pueden ser farmacológicas que pueden estar relacionadas con la dosis o ser reacciones idiosincrásicas, impredecibles e independientes de la dosis, tal como lo muestra la tabla siguiente

Efectos Adversos						
Nombre de antidepresivos	Anticolinérgico	Sedación	Hipotensión Ortostática	Arritmias Cardiacas	Molestias Gastrointestinal	Aumento Peso
Aminotriptilina	++++	++++	++++	+++	+	++++
Clormipramina	++++	++++	++	+++	+	++++
Imipramina	+++	+++	++++	+++	+	++++
Fluoxetina	0	0	0	0	+++	0
Fluvoxetina	0	0	0	0	+++	0
Paroxetina	+	+	0	0	+++	+
Sertralina	0	0	0	0	+++	0
Venlanfaxina	+	+	0	0	+++	0
Mirtazapira	+	+++	0	0	0	+++

En una revisión Cochrane acerca de la adherencia al tratamiento con fármacos antidepresivos se presentó un menor número total de abandonos con los ISRS. La media de abandono fue del 27% con éstos y del 30% en los fármacos con los que se comparó. La tasa de abandonos que se produjo con los ISRS debido a una falta de eficacia fue mayor, lo que se contrarrestó con un menor porcentaje de abandonos debido a efectos adversos. El abandono del tratamiento antidepresivo o el manejo inadecuado esta asociado significativamente con un mayor riesgo de recaída y recurrencia, presentándose un riesgo adicional para desarrollo de depresión crónica con cada episodio subsiguiente²⁴.

2.2.7 Calidad de Vida en Depresión:

En años reciente, se ha presentado un mayor desarrollo en los desordenes bipolares, uno de estos resultados es la disminución de efectos adversos y menos sintomatología física experimentados por estos pacientes seguido de una mejoría en la calidad de vida determinado por el impacto de las intervenciones del tratamiento²⁵.

III.- PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIALES

3.1.1 Equipos

- Molino de cuchillas (Willey Mill St. Modell N° 3).
- Cocinilla eléctrica Ceran 500209 – Alemania.
- Cuba cilíndrica de vidrio 13 x 24cm.
- Balanza analítica Mettler.
- Estufa Memmert GmbH + Co.KG Typ Um200.
- Jaulas metálicas.
- Termoventilador .
- Piscina de vidrio 13x24 cm.
- Módulo de suspensión de la cola.
- Cámara filmadora Sony.

3.1.2 Material Biológico

- Ratones albinos cepa balc/53 de 4 semanas de edad.
- Hojas de *Hypericum laricifolium*.

3.1.3 Material de Laboratorio

- Pipetas Pasteur.
- Gomas de succión.
- Sondas orogástricas metálicas para ratones.
- Termómetro.
- Cronómetro.
- Jeringas descartables 1cc, 3cc y 5 cc.
- Guantes descartables 6 ½ y 8.
- Material de vidrio de laboratorio.
- Papel filtro.

3.1.4 Material Farmacológico y Reactivos

- Diazepam (Valium ®) 10mg Tabletas.
- Fluoxetina (Prozac ®) 20mg Tabletas.
- Alcohol 70%.
- Agua destilada.

3.2 PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DEL EXTRACTO

El extracto hidroalcohólico fue preparado recolectando las hojas de *Hypericum laricifolium* en la provincia de Huaraz, departamento de Ancash (entre una altitud de 2200 a 2800 msnm) y estabilizándose por medio de secado en estufa a una temperatura no mayor de 40° C por espacio de 3 días, posteriormente se realizó la molienda y se colocó 400g de hojas secas y molidas en un recipiente hermético con 2 litros de alcohol 70% por espacio de 7 días procediéndose luego al filtrado por medio de papel Wathman N 46. El líquido filtrado se depositó en placas de vidrio para su respectivo secado.

3.3 TECNICAS DE EVALUACION ANTIDEPRESIVA

3.3.1 Preparación de los animales

Los animales fueron alojados una semana antes del inicio del experimento para adaptarse, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental osciló entre 21-25 °C y 50-60% de humedad con 12 horas luz/oscuridad.

3.3.2 Prueba de Natación Forzada Modificada (FST)^{26,27}

Esta prueba permite evaluar la actividad antidepresiva de la sustancia de estudio. Se realizó una primera sesión de preprueba (sesión de habituación) de 15 minutos, donde se introdujo a cada animal a una piscina cilíndrica de vidrio de 13x24 cm conteniendo agua a 10 cm. de profundidad a temperatura de 21 – 25 °C, luego se retiraron los animales del cilindro, y fueron secados con una toalla, para retornarlos a su jaula.

Inmediatamente terminada la sesión de habituación, los animales fueron distribuidos en 4 grupos y tratados por vía oral de la siguiente manera:

Grupo N° 01 (n=13): Vehículo 5 ml/Kg

Grupo N° 02 (n=13): Diazepam 10 mg/Kg

Grupo N° 03 (n=13): Extracto hidroalcohólico de hojas *Hypericum laricifolium* 1% 100 mg/Kg

Grupo N° 04 (n=13): Extracto hidroalcohólico de hojas *Hypericum laricifolium* 10% 1000 mg/Kg

Dichos tratamientos fueron administrados cada 12 horas (1° dosis 8:30 a.m., 2^{da} dosis 8:30 p.m. y 3^{era} dosis 7:30 a.m.

Veinticuatro horas después de la sesión de habituación se realizó la segunda sesión (sesión de evaluación), donde se colocó en el cilindro a cada animal por un período de cinco minutos.

Se evaluaron los siguientes parámetros:²⁸

- Inmovilidad: es la prueba de Porsolt tradicional. La inmovilidad es definida cuando no se observa una actividad adicional que la requerida para mantener la cabeza del animal por encima del nivel de agua.
- Swimming son movimientos usualmente horizontales, en la cámara de nado que también incluye cruzar de un cuadrante a otro.
- Climbing también conocido como trepar, es definido como movimientos de las patas dirigidas hacia arriba a lo largo de la cámara de nado.

Se registró:

- El tiempo que dura cada evento (Inmovilidad, Swimming y Climbing) realizados por cada animal en un periodo de 5 minutos.

- El tiempo de nado hasta la extenuación fue usado como el índice de la capacidad del nado forzado. Los ratones fueron calificados como exhaustos cuando estos no salieron a la superficie del agua para respirar dentro de un periodo de 7 segundos (Kamakura et al.) (2001)²⁹ reportó que un periodo mayor de 7 segundos resulta en ahogamiento frecuente y menos de 5 segundos reduce la reproducibilidad del test.
- Todos los experimentos fueron filmados para luego realizar un análisis mas detallado.
- Todos los animales son distribuidos según un esquema randomizado.

3.3.3 Prueba de Suspensión de la Cola (TST)^{26,27}

Esta prueba se basa en el método de Steru (1985)³⁰ donde los animales son sometidos a un estado de depresión aguda mediante suspensión de la cola.

Los animales fueron distribuidos en 4 grupos y tratados por vía oral cada 12 horas (1^o dosis 8:00 a.m., 2^{da} dosis 8:00 p.m. y 3^{era} dosis 7:00 a.m.) de la siguiente manera:

Grupo N° 01 (n=10): Vehículo 5 ml/kg .

Grupo N° 02 (n=10): Fluoxetina 10 mg/Kg.

Grupo N° 03 (n=10): Extracto alcoholico de hojas *Hypericum laricifolium* 1% 100mg/Kg.

Grupo N° 04 (n=10): Extracto alcoholico de hojas *Hypericum laricifolium* 10% 1000mg/Kg.

Veinticuatro horas después los ratones fueron suspendidos individualmente por la cola, con una cinta adhesiva a 1 cm. del tercio distal de la cola por un período de 6 minutos. Este experimento se realizó en un módulo de 25x25x30 cm., con la cabeza del animal suspendida a 5cm de la base. La experiencia se realizó en una habitación oscura, con mínimo ruido que pudiera provocar estrés en los animales. La duración de inmovilidad se observó durante el último intervalo de 4 minutos^{26,30}.

Se registró:

- La duración de inmovilidad.
- Todos los experimentos fueron filmados para luego realizar un análisis mas detallado.
- Todos los animales son distribuidos según un esquema randomizado.

3.3.4 Análisis Estadístico

Todos los resultados fueron evaluados mediante el programa estadístico SPSS versión 12.0. Se emplearon para la evaluación la prueba ANOVA y comparaciones mediante el test Tukey, DMS y Schiffe. Se consideró significativo un $p < 0.05$.

IV. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE NATACION FORZADA

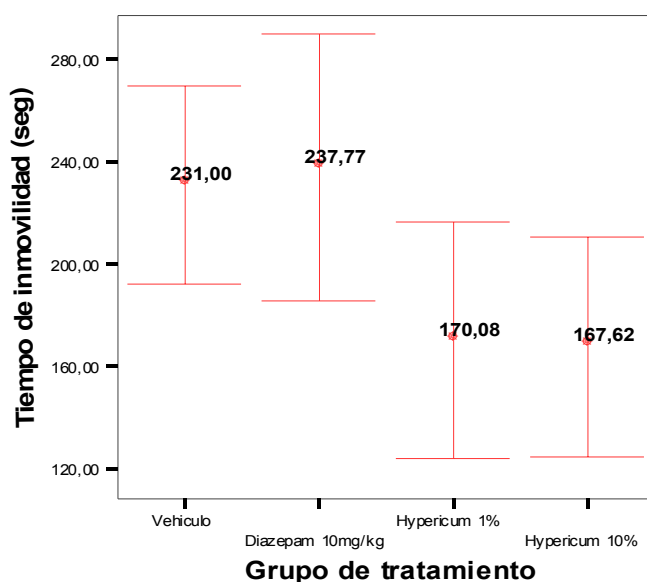
La Tabla N° 01 muestra los resultados del análisis descriptivo del tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado. Los ratones tratados con *Hypericum laricifolium* 1% y 10% presentaron menor tiempo de inmovilidad 170 \pm 76 seg y 167 \pm 71 seg respectivamente comparado con el grupo vehículo 231 seg ($p < 0.05$). Los grupos *Hypericum laricifolium* 1% y 10% mostraron una reducción en el tiempo de inmovilidad en 27 y 28% respectivamente. El mayor tiempo de inmovilidad se observa con los grupos diazepam y vehículo.

Tabla N° 01. Análisis descriptivo del tiempo de inmovilidad de ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la Prueba de Nado Forzado.

Grupo	N°	Media (seg)	Desviación típica
Vehículo	13	231.0000	64.42308
Diazepam 10mg/kg	13	237.7692	86.54879
<i>Hypericum</i> 1%	13	170.0769*	76.67623
<i>Hypericum</i> 10%	13	167.6154*	71.50704

*Las diferencias entre las medias, en relación al grupo vehículo es significativa al nivel 0.05.

Figura N° 01. Tiempo de inmovilidad de los ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la prueba de nado forzado.



Los intervalos muestran un IC de la media al 95%.

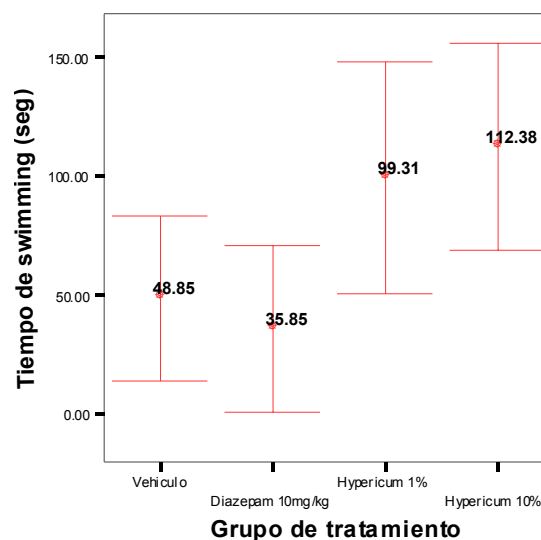
El tiempo de swimming fue significativamente mayor para el grupo con *Hypericum* 10% (Tabla N° 02) 112 ± 72 segundos, lo cual representa un incremento de 133% en relación al grupo control. Los demás grupos presentaron períodos no significativos de swimming.

Tabla N° 02. Análisis descriptivo del tiempo de swimming de ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la Prueba de Nado Forzado.

Grupo	N	Media (seg)	Desviación típica
Vehículo	13	48.8462	57.16474
Diazepam 10mg/kg	13	35.8462	57.53672
<i>Hypericum</i> 1%	13	99.3077	80.71388
<i>Hypericum</i> 10%	13	112.3846*	72.28939

*Las diferencias entre las medias, en relación al grupo vehículo es significativa al nivel 0.05.

Figura N° 02. Tiempo de swimming de los ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la prueba de nado forzado.



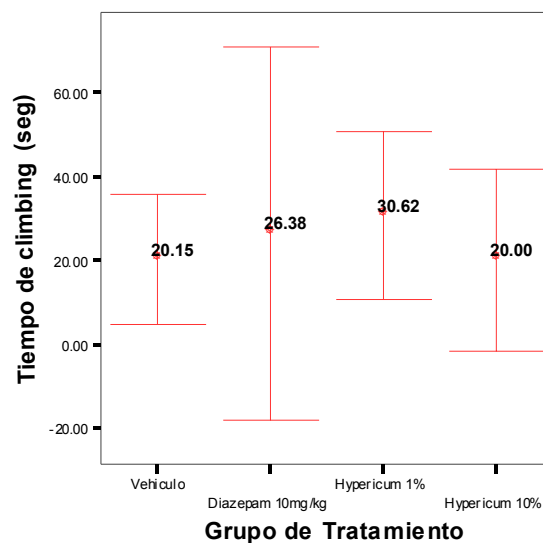
Los intervalos muestran un IC de la media al 95%.

Finalmente ningún grupo presentó diferencias estadísticamente significativas en relación a la duración del climbing (Tabla y Figura N° 03).

Tabla N° 03. Análisis descriptivo del tiempo de climbing de ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la Prueba de Nado Forzado.

Grupo	N	Media (seg)	Desviación típica
Vehículo	13	20.1538	25.58921
Diazepam 10mg/kg	13	26.3846	73.45468
<i>Hypericum</i> 1%	13	30.6154	33.19774
<i>Hypericum</i> 10%	13	20.0000	35.88175

Figura N° 03. Tiempo de climbing de los ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la prueba de nado forzado.



Los intervalos muestran un IC de la media al 95%.

4.2 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SUSPENSION DE LA COLA

En relación a los grupos control e *Hypericum laricifolium* 1% (108 ± 47 y 73 ± 28 segundos respectivamente), los animales no mostraron diferencias en el tiempo de inmovilidad estadísticamente significativa; en contraste a los animales tratados con fluoxetina 20 mg/kg e *Hypericum laricifolium* 10% quienes presentaron menor tiempo de inmovilidad en la prueba de suspensión de la cola (42 ± 30 y 65 ± 29 segundos respectivamente) con resultados significativamente cercanos (Tabla N° 04).

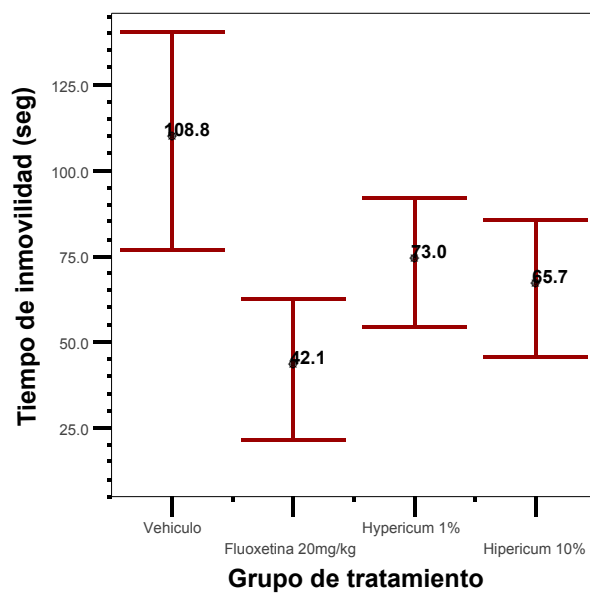
El grupo *Hypericum laricifolium* 10% redujo el tiempo de inmovilidad en 40% en relación al grupo tratado con vehículo.

Tabla N° 04. Análisis descriptivo del tiempo de inmovilidad de ratones tratados con *Hypericum laricifolium* y sometidos a la Prueba de suspensión de la cola.

Grupo	N	Media (seg)	Desviación típica
Vehículo	11	108.818	47.2796
Fluoxetina 20mg/kg	11	42.091*	30.3890
<i>Hypericum</i> 1%	11	73.000	28.0250
<i>Hypericum</i> 10%	11	65.727*	29.7123

*Las diferencias entre las medias, en relación al grupo vehículo es significativa al nivel 0.05.

Figura N° 04. Tiempo de inmovilidad de los ratones tratados con *Hypericum laricifolium* sometidos a la prueba de suspensión de la cola.



Los intervalos muestran un IC de la media al 95%

V. DISCUSION

La prueba de nado forzado representa un estado de estrés inducido, en la que el animal tiene la posibilidad de desplazarse; esta conducta de desplazamiento esta relacionado con una actividad neuronal adrenérgica. Cuando los comportamientos de escape y stress son inútiles en una circunstancia desagradable los humanos se desesperan, esta podría ser la razón en la que Porsolt consideró la natación forzada como un modelo animal de depresión inducida por desesperación frente a una situación estresante³¹. Los modelos de natación forzada modificada (incremento en la profundidad del agua, y modificación en la forma de la cuba) permiten evaluar, además de la inmovilidad otros comportamientos tales como swimming y climbing. Se ha demostrado que los compuestos serotoninérgicos incrementan la respuesta de swimming mientras que los compuestos que actúan por mecanismos noradrenérgicos incrementan el comportamiento del climbing^{28,31,32,33,34}.

En nuestro experimento empleamos el modelo de natación forzada de Porsolt modificada²⁸. Los resultados de la prueba de natación forzada mostraron que el tiempo de inmovilidad en los ratones tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas *Hypericum laricifolium* 1% y 10% disminuyeron en 27 y 28% respectivamente en relación al grupo control **(Tabla 1 y Figura 1)**. Por otro lado el tiempo de swimming fue significativamente mayor solo para el grupo de ratones tratados con *Hypericum laricifolium* 10%, lo cual representó un incremento de 133% en relación al grupo control **(Tabla 2 y Figura 2)**. Sin embargo no se presentaron diferencias significativas en la duración del climbing entre los grupos tratados **(Tabla 3 y Figura 3)**.

El *Hypericum laricifolium* según nuestros hallazgos reduce significativamente el tiempo de inmovilidad en la prueba de nado forzado demostrando su efecto antidepresivo según el criterio de Porsolt, tal como se han encontrado en otras especies de *Hypericum canadiense*, *Hypericum glandulosum*,

Hypericum perforatum, donde también mostraron reducción significativa de la inmovilidad en la prueba de nado forzado^{2,35}.

Sin embargo otras especies de *Hypericum* (derivadas del sur de Brasil) tales como *Hypericum carinatum*, *H. connatum*, *H. cordatum*, *H. poliantemum*, no mostraron actividad antidepresiva según el mismo modelo experimental⁵.

Viana y col³⁶ demostraron que el *Hypericum caprifoliatum* presenta efecto antidepresivo, probablemente debido a un incremento en la transmisión monoaminérgica, resultado de la inhibición de la recaptación de monoaminas, lo cual puede estar relacionado con su contenido de floroglucinol.

Al parecer la hyperforina conjugada (derivado floroglucinol) exhibe significativa actividad antidepresiva como lo evidencian estudios que muestran un período reducido de inmovilidad en el test de nado forzado en ratas³⁷.

Además de la inmovilidad en esta prueba nosotros evaluamos otros parámetros como el swimimng el cual resultó en un incremento significativo lo que indicaría un posible mecanismo de acción serotoninérgica ya que se ha demostrado que varios agonistas 5-HT generalmente disminuyen la duración de la inmovilidad y swimming en la prueba de nado forzado²⁶.

La prueba de suspensión de la cola es una prueba estresante en la cual el animal no puede escapar, interpretándose como una actividad neuronal serotoninérgica, aun con mayor sensibilidad que la prueba de natación forzada, lo cual la hace altamente eficaz para evaluar compuestos antidepresivos serotoninérgicos^{26,31}, la inmovilidad en la prueba de suspensión se debe a la incapacidad para mantener el esfuerzo al intento de escapar en vez de una hipoactividad generalizada. En la prueba, la inmovilidad puede ser análogo a las observaciones clínicas, que los pacientes deprimidos frecuentemente experimentan, reflejándose en un daño psicomotor pronunciado³⁰.

Nuestros resultados de la prueba de suspensión de la cola mostraron que los animales tratados con *Hypericum laricifolium* al 10% presentaron un menor tiempo de inmovilidad en 40 % en relación al grupo vehículo, resultados similares fueron encontrados en el grupo tratado con fluoxetina **(Tabla 4 y Figura 4)**.

Basados en los resultados obtenidos en la Prueba de Nado Forzado y Suspensión de la Cola, podemos afirmar que las hojas del *Hypericum laricifolium* presentan actividad antidepresiva; interpretándose su mecanismo de acción probablemente por su actividad neuronal serotoninérgica.

Una de las especies de *Hypericum* más estudiado es el *Hypericum perforatum* quien presenta una compleja y diversa composición química, los constituyentes incluyen aceites volátiles carotenoides, cumarinas y flavonoides (incluyendo hiperoside, quersetina y rutina, naftodiantrona 0,1 – 0,3 % de los cuales 80 a 90 % son hypericina y pseudohypericina), ácido carbolico, floroglucinas (hyperforina), xantonas y proantocianidinas. Las naftodiantronas, hypericina y pseudohypericina e hyperforina recibieron mayor atención en estudios farmacológicos específicamente en el campo de la depresión pudiendo contribuir de forma importante a la acción antidepresiva de la planta^{2,7,38}. Se ha demostrado que la hyperforina presenta una potencia antidepresiva 10 veces mayor que el extracto total³⁹.

El *Hypericum perforatum* presenta variabilidad en la concentración de sus constituyentes. Por ejemplo el contenido total de flavonoides oscila entre 4,85 y 15.9 % mientras que las hypericinas oscilan entre 0,05 a 0,11 % y las hyperforinas de 1,37 a 20,8% estas diferencias explicarían por que esta planta puede presentar variabilidad en sus resultados farmacológicos⁴.

Usai y col⁴⁰, por otro lado hallaron que el extracto de *Hypericum angustifolium* presenta una potencia antidepresiva 8 veces mayor que el *Hypericum perforatum* probablemente debido a su alta concentración de hyperforina.

Sin embargo algunos investigadores afirman que otros componentes del *Hypericum* en combinación podrían ser responsables del efecto antidepresivo^{38,41}.

En relación a su mecanismo de acción, el *Hypericum perforatum* ha demostrado no sólo inhibir la acción de las monoaminooxidasas sino también inhibir la recaptación sinaptosomal de serotonina, dopamina y noradrenalina, aproximadamente con similar afinidad. Sin embargo en ensayos *in vitro* esta planta demostró afinidad significativa para adenosine, GABA (A), receptores de GABA (B) y glutamato, en la corteza frontal de rata, modificando además las concentraciones de neurotransmisores en áreas de cerebro involucrados en la depresión^{2,42,43,44}.

Otros estudios han observado niveles bajos de corticosterona y cortisol en corteza cerebral frontal de ratas tratadas con extracto de *Hypericum* lo cual explicaría un mecanismo antidepresivo alterno^{2,7,45}.

Investigaciones realizadas en ratas en los últimos años, indican que la actividad antidepresiva del *Hypericum* se manifiesta con un aumento de la actividad locomotora y del efecto ansiolítico, sugiriéndose que el receptor benzodiasepínico también estaría implicado en la actividad ansiolítica del *Hypericum*^{6,46}.

Refiriéndonos a su seguridad, las especies de *Hypericum* canadiense glandulosum, reflexum y grandifolium, han demostrado poseer actividad antidepresiva en ratones sin inducir relajación muscular, propiedades anticolinérgicas y sedantes⁴⁷. De igual modo el *Hypericum perforatum* no presenta signos clínicos y toxicidad materna - fetal en modelos animales, ya que no interfiere con el proceso de organogénesis^{48,49,50}.

Por otro lado el extracto de *Hypericum* tiene 10 veces menos incidencia de efectos adversos que los registrados con antidepresivos sintéticos, lo cual demuestra su seguridad favorable mayor que los fármacos convencionales^{51,52}.

Los estudios de metanálisis en pacientes han confirmado que el *Hypericum perforatum* es más efectivo que el placebo para el tratamiento de depresión leve a moderada. Además otros ensayos clínicos demuestran la eficacia del *Hypericum perforatum* comparado con fármacos antidepresivos clásicos tales como imipramina, aminotriptilina y fluoxetina en personas con depresión leve a moderada y probablemente con menos efectos adversos^{2,53}.

Ensayos doble ciegos randomizados sugieren que 800 mg de *Hypericum perforatum* es tan efectiva como 20 mg por día de fluoxetina en 6 semanas de tratamiento y con menores efectos adversos. Otro estudio muestra efectividad del 83% tan efectiva como la terapia de fluoxetina².

Aparentemente el *Hypericum perforatum* es bien tolerado y desprovisto de toxicidad, siendo considerado por algunos autores como una interesante alternativa a los antidepresivos sintéticos (excluyendo los casos depresivos graves)¹.

Aunque la evidencia demuestra la propiedad antidepresiva de varias especies de hypericum, existen diversas variedades que carecen de este efecto. En este estudio, se demostró que la especie peruana *Hypericum laricifolium* constituye una posible opción terapéuticamente efectiva según los hallazgos preclínicos y por lo tanto podría llegar a ser una alternativa racional a antidepresivos sintéticos convencionales⁵⁴.

VI .CONCLUSIONES

1. En nuestro experimento el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* 10% demostró tener efecto antidepresivo en ambos modelos de depresión experimental.
2. El efecto antidepresivo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* al parecer es dependiente de la dosis.
3. En relación a su efecto antidepresivo, el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum laricifolium* 10% no presenta diferencias significativas con el grupo tratado con fluoxetina 20mg/kg.

VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2ª ed. Zaragoza: Acribia; 2001
2. Butterweck V. Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known? CNS Drugs. 2003;17(8):539-62.
3. Tolonen A, Uusitalo J, Hohtola A, Jalonen J. Determination of naphthodianthrone and phloroglucinols from *Hypericum perforatum* extracts by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom. 2002;16(5):396-402.
4. Bergonzi MC, Bilia AR, Gallori S, Guerrini D, Vincieri FF. Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. And some commercial extracts. Drug Dev Ind Pharm. 2001 Jul;27(6):491-7.
5. Gnerre C, von Poser GL, Ferraz A, Viana A, Testa B, Rates SM. Monoamine oxidase inhibitory activity of some *Hypericum* species native to South Brazil. J Pharm Pharmacol. 2001 Sep;53(9):1273-9.
6. Pareja B. Plantas Medicinas Comentário. Folia Derm Per. 2001; 12(1).
7. Monograph *Hypericum perforatum*. Altern Med Rev. 2004; 9(3): 318-323
8. Brack A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles en el Perú. Cuzco: CBC; 1999.
9. Paredes F, Roca J. El Hyperico y el tratamiento de la depresión. OFFARM.2003;22(1): 108-114
10. Trees and shrubs of the Andes of Ecuador [sede web]. Ecuador; 2004 [acceso 13 de enero del 2007]. De Ulloa C, Moller P. Andes Trees: clusiaceae. Disponible en: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=116180
11. Andean Botanical Information System [sede web]. ABIS; 1997 [acceso 13 de enero del 2007]. Floristic Diversity in the Andes: Clusiaceas. Disponible en: http://www.sacha.org/famil/a_to_m/clusi.htm
12. Herran A, Cuesta M, Vásquez J. Trastornos del estado de ánimo. En: Vásquez J. Psiquiatría en Atención Primaria. Madrid: Aula Medica; 1998. p231-258.
13. Butler R, Carney S, Cipriani A, Geddes J, Hatcher S, Price J et al. Depressive disorders. Clin Evid. 2005; 14:1-7.
14. Quiroz J, Zarate C. Trastornos afectivos. En: Alarcón R., Mazzotti G, Nicolini H. Psiquiatría. 2a ed. México: Manual Moderno; 2005. p 401-451
15. Dudenk D. Treatment of Depression: Clinical Aspects. Pol J Pharmacol. 2003; 55: 1-4.
16. Peyrot M. Depresión: A Quiet Killer by Any Name. Diabetes Care. 2003; 26(10): 2952-2953.
17. Mahendran R, Yap H. Clinical practice guidelines for depression. Singapore Med J. 2005;46(11):610-615.
18. Pirraglia P, Rosen A, Herman R, Olchanski N, Neumann P. Cost-Utility Analysis Studies of Depression Management: A Systematic Review. Am J Psychiatry. 2004; 161:2155– 2162.
19. Ballus C. Psiquiatría. En: Farreraz R. Medicina Interna. 15ª ed. Barcelona. Harcourt; 2004. p. 1581-1617.
20. Rang H, Dales M, Riter J, Moore P. Farmacología. 5ª ed. Madrid: Elsevier; 2004.
21. Remick R. Diagnosis and Management of Depression in primary care: a clinical update and review. CMAJ. 2002; 167(11): 1253-1260.
22. Ayuso J. Uso Clínico de los Fármacos Antidepresivos. En: Vásquez J. Psiquiatría en Atención Primaria. Madrid: Aula Medica; 1998. p577-589.

23. Universidad Nacional del Nordeste de Argentina [sede web]. Corrientes. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas; 2001 [acceso 13 de enero del 2007]. Dos Santos L, Valsecia M, Ninamango R, Salas R, Malgor L. Reacciones Adversas Producidas por antidepresivos. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/medicina/m-028.pdf>
24. Universidad de Oxford [sede web]. Oxford. Bandolier Journal; 2001 [acceso 13 de enero del 2007]. Adherencia al Tratamiento con Fármacos. Disponible en: <http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/band84/b84-3.html> 2001; 84 – 3.
25. Michalak E, Yatham L, Law R. Quality of Life in Bipolar Disorder: A review of the literature. *Health Qual Life Outcomes*. 2005; 3: 72-89.
26. Wiley J. Model of Affective Illness: Forced Swimming and Tail Suspension Tests in Rodents *Current Protocols in Pharmacology*. 2000. Unit 5.8: 5.8.1 – 5.8.9.
27. Flores D, Cervantes J, Munares O. Modelos Animales de Enfermedad: Ensayos Farmacológicos in vivo. Lima. 2005.
28. Cryan J, Markou A, Lucki I. Assessing Antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*. 2002; 23(5): 238-245.
29. Kamakura M, Mitani N, Fukuda T, Fukushima M. Antifatigue effect of fresh extract of Royal jelly in mice. *J Nutric Sci Vitaminol*. 2001; 47: 394-401.
30. Cryan J, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29: 571 - 625.
31. Masuda Y, Ishigooka S, Matsuda Y. Behaviors of Mice Give forced-Swimming. *Exp. Anim*. 2001; 50(4):331-335.
32. O'Neil M, Moore N. Animal models of depression: Are there any? *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2003; 18: 239 – 254
33. Cryan, J., & Lucki, I. Antidepressant-like effects mediated by 5-hydroxytryptamine_{2c} receptors. *J Pharm Experimental Therapeutics*. 2000; 295(3): 1120–1126.
34. Detke, M., Rickels, M., & Lucki, I. (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differently produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121, 66–72
35. Sánchez-Mateo CC, Bonkanka CX, Prado B, Rabanal RM. Antidepressant properties of some *Hypericum canariense* L. and *Hypericum glandulosum* Ait. extracts in the forced swimming test in mice. *J Ethnopharmacol*. 2005 Mar 21; 97(3):541-7.
36. Viana A, do Rego JC, von Poser G, Ferraz A, Heckler AP, Costentin J, Kuze Rates SM. The antidepressant-like effect of *Hypericum caprifoliatum* Cham & Schlecht (Guttiferae) on forced swimming test results from an inhibition of neuronal monoamine uptake. *Neuropharmacology*. 2005 Dec;49(7):1042-52.
37. Muruganandam AV, Bhattacharya SK, Ghosal S. Antidepressant activity of hyperforin conjugates of the St. John's wort, *Hypericum perforatum* Linn.: an experimental study. *Indian J Exp Biol*. 2001;39(12):1302-4.
38. Verotta L. *Hypericum perforatum*, a source of neuroactive lead structures. *Curr Top Med Chem*. 2003;3(2):187-201.
39. Gambarana C, Tolu PL, Masi F, Rinaldi M, Giachetti D, Morazzoni P, De Montis MG. A study of the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* on animal models. *Pharmacopsychiatry*. 2001;34 Suppl 1:S42-4.
40. Usai M, Leggio B, Grappi S, Nanni G, Gambarana C, Tolu P, Giachetti D, De Montis MG. *Hypericum perforatum* subspecies *angustifolium* shows a protective activity on the consequences of unavoidable stress exposure at

- lower doses than *Hypericum perforatum perforatum*. *Pharmacopsychiatry*. 2003 Nov;36(6):283-7.
41. Butterweck V, Christoffel V, Nahrstedt A, Petereit F, Spengler B, Winterhoff H. Step by step removal of hyperforin and hypericin: activity profile of different *Hypericum* preparations in behavioral models. *Life Sci*. 2003 Jun 20; 73(5):627-39.
 42. Rodríguez-Landa JF, Contreras CM. A review of clinical and experimental observations about antidepressant actions and side effects produced by *Hypericum perforatum* extracts. *Phytomedicine*. 2003 Nov; 10(8):688-99.
 43. Butterweck V, Winterhoff H, Herkenham M. St John's wort, hypericin, and imipramine: a comparative analysis of mRNA levels in brain areas involved in HPA axis control following short-term and long-term administration in normal and stressed rats. *Mol Psychiatry*. 2001 Sep; 6(5):547-64.
 44. Müller WE. Current St John's wort research from mode of action to clinical efficacy. *Pharmacol Res*. 2003; 47(2):101-9.
 45. Franklin M, Reed A, Murck H. Sub-chronic treatment with an extract of *Hypericum perforatum* (St John's wort) significantly reduces cortisol and corticosterone in the rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2004 Jan; 14(1):7-10.
 46. Flausino OA Jr, Zangrossi H Jr, Salgado JV, Viana MB. Effects of acute and chronic treatment with *Hypericum perforatum* L. (LI 160) on different anxiety-related responses in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002 Jan-Feb; 71(1-2):251-7.
 47. Prado B, Rabanal RM, Sánchez-Mateo CC. Evaluation of the central properties of several *Hypericum* species from the Canary Islands. *Phytother Res*. 2002; 16(8):740-4.
 48. Borges LV, do Carmo Cancino JC, Peters VM, Las Casas L, de Oliveira Guerra M. Development of pregnancy in rats treated with *Hypericum perforatum*. *Phytother Res*. 2005; 19(10):885-7.
 49. Borges LV, Carmo JC, Peters VM, Las Casas L, Guerra Mde O. Evaluation of *Hypericum perforatum* toxicity when administered to pregnant rats. *Rev Assoc Med Bras*. 2005; 51(4):206-8.
 50. Valente L, Correia J, Peters V, Las Casas L, Oliveira M. A Toxicidade do *Hypericum perforatum* Administrado a Ratas Prenhes. *Rev Assoc Med Bras*. 2005; 51(4): 206 -208
 51. Moreno RA, Teng CT, Almeida KM, Tavares Junior H. *Hypericum perforatum* versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a randomized double-blind trial in a Brazilian sample. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006 Mar;28(1):29-32.
 52. Pilkington K, Boshnakova A, Richardson J. St John's wort for depression: time for a different perspective? *Complement Ther Med*. 2006 Dec; 14(4):268-81. Epub 2006 Feb 28.
 53. Kasper S, Dienel A. Cluster analysis of symptoms during antidepressant treatment with *Hypericum* extract in mildly to moderately depressed outpatients. A meta-analysis of data from three randomized, placebo-controlled trials. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002 Nov; 164(3):301-8. Epub 2002 Sep 14.
 54. Behnke K, Jensen GS, Graubaum HJ, Gruenwald J. *Hypericum perforatum* versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression. *Adv Ther*. 2002 Jan-Feb; 19(1):43-52.

VIII. ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



CONSTANCIA Nº 110-USM-2007

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida del Srta. GRACIELA LAINES LOZANO, ha sido estudiada y clasificada como: *Hypericum laricifolium* Jussieu, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE : DILENIIDAE

ORDEN: THEALES

FAMILIA: CLUSIACEAE

GENERO: *Hypericum*

ESPECIE: *Hypericum laricifolium*
Jussieu

Determinada por: Mg. Joaquina Albán C.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de investigación.

Lima, de 28 Mayo de 2007.

Mg. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS





Figura N° 05. Fotografía de *Hypericum laricifolium* Jussieu



Figura N° 06. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Hypericum laricifolium* Jussieu



Figura N° 07. Manipulación de animales de experimentación



Figura N° 08. Pesado de animales



Figura N° 09. Administración de las sustancias de ensayo



Figura N° 10. Instalación del equipo y verificación de la temperatura del agua



Figura N° 11. Preparación del equipo de filmación



Figura Nº 12. Inicio de la prueba de nado forzado



Figura Nº 13. Instalación del equipo de suspensión de la cola



Figura N° 14. Colocación de los animales en el equipo de suspensión de la cola



Figura N° 15. Prueba de suspensión de la cola en curso